

**PATOGENISITAS DAN IDENTIFIKASI MOLEKULER DELAPAN  
JAMUR ENTOMOPATOGEN SEBAGAI AGENSIA PENGENDALI  
HAMA WERENG COKLAT BATANG PADI (*Nilaparvata lugens* Stal.)  
PADA TANAMAN PADI**

**(Skripsi)**

**Oleh**

**LITA THERESIA PASARIBU**



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2018**

## **ABSTRAK**

### **PATOGENISITAS DAN IDENTIFIKASI MOLEKULER DELAPAN JAMUR ENTOMOPATOGEN SEBAGAI AGENSIA PENGENDALI HAMA WERENG COKLAT BATANG PADI (*Nilaparvata lugens* Stal.) PADA TANAMAN PADI**

Oleh

Lita Theresia Pasaribu

Wereng coklat (*Nilaparvata lugens* Stal.) merupakan hama penting pada tanaman padi yang harus dikendalikan. Salah satu cara pengendalian hama yang ramah lingkungan dengan menggunakan jamur entomopatogen sebagai agensia pengendali hayati. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui patogenisitas delapan jamur entomopatogen terhadap wereng coklat serta mengetahui identitas delapan isolat tersebut. Pada penelitian ini terdapat 3 sub percobaan, percobaan pertama yaitu uji pertumbuhan dan perkembangan delapan jamur entomopatogen secara *in vitro* yang disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL), percobaan kedua yaitu uji patogenisitas delapan isolat jamur entomopatogen pada wereng coklat yang disusun dalam Rancangan Acak Kelompok (RAK), dan percobaan ketiga yaitu identifikasi molekuler delapan isolat jamur entomopatogen menggunakan primer ITS 1 dan ITS 4. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2018–Mei 2018 bertempat di Laboratorium Bioteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

Dari hasil penelitian diperoleh delapan isolat jamur entomopatogen mempunyai pengaruh yang berbeda dalam pertumbuhan, sporulasi, serta viabilitas spora. Kemudian delapan jamur entomopatogen mempunyai tingkat patogenisitas yang berbeda-beda dalam menginfeksi wereng coklat. Perlakuan A2 memiliki presentase mortalitas tertinggi sebesar 47,22% dan perlakuan B2 mempunyai mortalitas terendah sebesar 16,67%. Dari hasil identifikasi molekuler didapatkan isolat A1, A2, dan A4 merupakan *Aspergillus oryzae*; isolat B1 dan B2 merupakan *Beauveria bassiana*; isolat MT merupakan *Metarhizium flavoviride*; isolat PNC merupakan *Penicillium oxalicum*; dan isolat A3 merupakan *Talaromyces sayulitensis*.

Kata kunci: identifikasi molekuler, jamur entomopatogen, uji patogenisitas, wereng coklat (*Nilaparvata lugens* Stal.)

**PATOGENISITAS DAN IDENTIFIKASI MOLEKULER DELAPAN JAMUR  
ENTOMOPATOGEN SEBAGAI AGENSIA PENGENDALI HAMA WERENG  
COKLAT BATANG PADI (*Nilaparvata lugens* Stal.) PADA TANAMAN PADI**

Oleh

Lita Theresia Pasaribu

**Skripsi**

Sebagai Salah Satu Syarat Mencapai Gelar  
**SARJANA PERTANIAN**

Pada

Jurusan Agroteknologi Universitas Lampung



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2018**

Judul Skripsi : **PATOGENISITAS DAN IDENTIFIKASI MOLEKULER DELAPAN JAMUR ENTOMOPATOGEN SEBAGAI AGENSIA PENGENDALI HAMA WERENG COKLAT BATANG PADI (*Nilaparvata lugens* Stal.) PADA TANAMAN PADI**

Nama Mahasiswa : **Lita Theresia Pasaribu**

Nomor Pokok Mahasiswa : 1414121129

Jurusan : Agroteknologi

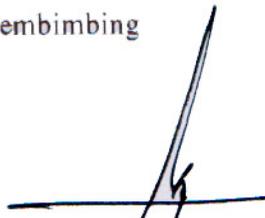
Fakultas : Pertanian

**MENYETUJUI**

1. Komisi Pembimbing

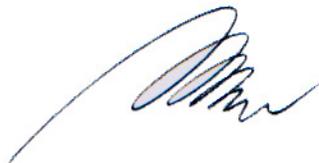


**Yuyun Fitriana, S.P., M.P., Ph.D.**  
NIP 198108152008122001



**Ir. Solikhin, M.P.**  
NIP 196209071989031002

2. Ketua Jurusan Agroteknologi



**Prof. Dr. Ir. Sri Yusnaini, M.Si.**  
NIP 196305081988112001

**MENGESAHKAN**

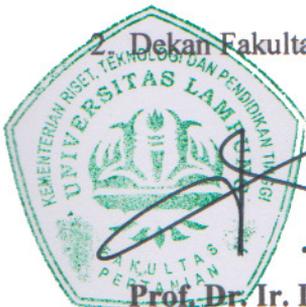
1. Tim Penguji

Pembimbing Utama : **Yuyun Fitriana, S.P., M.P., Ph.D.** .....

Anggota Pembimbing : **Ir. Solikhin, M.P.** .....

Penguji  
Bukan Pembimbing : **Prof. Dr. Ir. Purnomo, M.S.** .....

2. Dekan Fakultas Pertanian



**Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.**  
NIP 196110201986031002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 13 Agustus 2018

## SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini, menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul "**PATOGENISITAS DAN IDENTIFIKASI MOLEKULER DELAPAN JAMUR ENTOMOPATOGEN SEBAGAI AGENSIA PENGENDALI HAMA WERENG COKLAT BATANG PADI (*Nilaparvata lugens* Stal.) PADA TANAMAN PADI**" merupakan hasil saya sendiri dan bukan hasil karya orang lain. Semua hasil yang tertuang dalam skripsi ini telah mengikuti kaidah penulisan karya ilmiah Universitas Lampung. Apabila di kemudian hari terbukti bahwa skripsi ini merupakan hasil salinan atau dibuat oleh orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan ketentuan akademik yang berlaku.

Bandar Lampung, 18 Agustus 2018



*Lita Theresia Pasaribu*  
**Lita Theresia Pasaribu**  
NPM 1414121129

## **RIWAYAT HIDUP**

Penulis dilahirkan di Kota Bandar Lampung, Provinsi Lampung pada tanggal 18 Agustus 1996. Penulis merupakan anak kedua dari tiga bersaudara pasangan Bapak Tua Pandapotan Pasaribu dan Ibu Binur Darmawansyah Tambunan. Penulis telah menyelesaikan pendidikan di TK Xaverius I Teluk Betung pada tahun 2002, SD Xaverius I Teluk Betung pada tahun 2008, SMPN 3 Bandar Lampung pada tahun 2011, dan SMAN 8 Bandar Lampung pada tahun 2014. Pada tahun yang sama, penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Penulis telah melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Negeri Agung, Kecamatan Selagai Lingga, Kabupaten Lampung Tengah pada tahun 2016 dan Praktik Umum di PT Sayuran Siap Saji, Megamendung, Bogor pada tahun 2017. Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Bioekologi Hama Tumbuhan (2016 dan 2017), Pengendalian Penyakit Tumbuhan (2017), Klimatologi Pertanian(2017), Ilmu Hama Tumbuhan (2018), Pengendalian Hayati Tanaman Tebu (2018), dan menjadi tutor Forum Ilmiah Mahasiswa (2016 dan 2017).

## **PERSEMBAHAN**

Dengan penuh rasa syukur kupersembahkan karya ini sebagai ungkapan terima kasihku untuk:

1. Kedua orang tuaku tercinta, Bapak Tua Pandapotan Pasaribu dan Ibu Binur Darmawansyah Tambunan, yang senantiasa mendoakan dan mengiringi langkahku dengan segala daya serta tiada henti memberikan nasihat, bimbingan, dan curahan kasih sayang.
2. Kakak dan adikku, Christopher Pasaribu dan Donni Cerpin Pasaribu, terimakasih atas doa, perhatian dan dukungannya selama ini, semoga kita bisa menjadi putra-putri yang selalu membanggakan orang tua.

Karya sederhana ini ku bingkiskan untuk:

1. Teman-teman seperjuangan Agroteknologi 2014.
2. Almamaterku Universitas Negeri Lampung  
sebagai tempatku mencari ilmu.

## MOTTO

*“Do not wait; the time will never be “just right.” Start where you stand, and work with whatever tools you may have at your command, and better tools will be found as you go along”*

“Jangan menunggu karena tak akan ada waktu yang tepat. Mulailah dari sekarang, dan berusahalah dengan segala yang ada, dan seiring waktu akan ada cara yang lebih baik asalkan tetap berusaha”

**(Napoleon Hill)**

## SANWACANA

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan limpahan kasih-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Patogenisitas dan Identifikasi Molekuler Delapan Jamur Entomopatogen sebagai Agensia Pengendali Hama Wereng Coklat Batang Padi (*Nilaparvata lugens* Stal.) pada Tanaman Padi”**.

Skripsi ini telah penulis susun secara maksimal dengan bantuan dari berbagai pihak. Untuk itu penulis menyampaikan terimakasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si., selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
2. Prof. Dr. Ir. Sri Yusnaini, M.Si., selaku Ketua Jurusan Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
3. Prof. Dr. Ir. Purnomo, M.S., selaku Ketua Bidang Proteksi Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
4. Yuyun Fitriana, S.P., M.P., Ph.D., selaku pembimbing utama yang telah memberikan ilmu, bimbingan, motivasi, nasihat, saran, masukan serta perhatian selama proses penelitian dan penyusunan skripsi.

5. Ir. Solikhin, M.P., selaku pembimbing kedua yang telah memberikan bimbingan, nasihat, masukan, dan saran selama proses penelitian dan penyusunan skripsi.
6. Prof. Dr. Ir. Purnomo, M.S., selaku pembahas yang telah memberikan motivasi, nasihat, masukan, dan saran sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
7. Radix Suharjo, S.P., M.Agr., Ph.D., yang telah memberikan motivasi, arahan dan masukan selama penulis melakukan penelitian sampai penulis dapat menyelesaikan skripsi.
8. Akari Edy, S.P., M.Si., selaku dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing penulis dari awal sampai akhir dalam belajar.
9. Kedua orang tua, Bapak Tua Pandapotan Pasaribu dan Ibu Binur Darmawansyah Tambunan, yang telah memberikan banyak dorongan, kasih sayang, saran, masukan, nasihat, semangat, serta doa yang tak pernah putus sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi ini dan dapat menyelesaikan pendidikan di Universitas Lampung.
10. Kakak dan adik tersayang, Christopher Pasaribu dan Donni Cerpin Pasaribu, yang tak pernah lelah dalam mendoakan dan memberi semangat kepada penulis dalam menyelesaikan penulisan skripsi.
11. Diah Ayu Astuti, Febe Atalia Tambunan, Lily Agustini Waruwu, yang telah banyak membantu penulis selama proses penelitian.
12. Teman-teman seperjuangan Diah, Febe, Lily, Maya, Mei, Hani A., Hani L., Devita, Indah, Ma'ruf, atas doa dukungan, dan kebersamaan yang tak terlupakan.

13. Bihikmi Semenguk, Ika Rachma Pangesti, Eryka Merdiana, Rully  
Febriansyah, Siti Jarlina, atas bantuan yang telah diberikan kepada penulis.
14. Keluarga Agroteknologi 2014 yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu.

Semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Bandar Lampung, Agustus 2018

Penulis

**Lita Theresia Pasaribu**

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xv</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xviii</b>
<b>I. PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan.....	3
1.3 Kerangka Pemikiran .....	4
1.4 Hipotesis .....	6
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>7</b>
2.1 Tanaman Padi .....	7
2.2 Wereng Coklat.....	8
2.3 Pengendalian Hayati.....	11
2.4 Jamur Entomopatogen .....	12
2.4.1 <i>Beauveria</i> sp.....	13
2.4.2 <i>Metarhizium</i> sp.....	14
2.4.3 <i>Penicillium</i> sp.....	14
2.4.4 <i>Aspergillus</i> sp.....	15
2.5 <i>Polymerase Chain Reaction</i> .....	16
2.6 Elektroforesis.....	18
<b>III. BAHAN DAN METODE.....</b>	<b>20</b>
3.1 Waktu dan Tempat.....	20
3.2 Bahan dan Alat .....	20
3.3 Metode Penelitian .....	21
3.4 Pelaksanaan Penelitian .....	22
3.4.1 Uji pertumbuhan dan perkembangan delapan jamur entomopatogen .....	22
3.4.1.1 Penyediaan delapan isolat jamur entomopatogen ....	22
3.4.1.2 Pembuatan media <i>Potato Dextrose Agar</i> (PDA) .....	22
3.4.1.3 Inokulasi delapan jamur entomopatogen pada media PDA .....	23
3.4.2 Uji patogenisitas delapan isolat jamur entomopatogen pada wereng coklat .....	23
3.4.2.1 Penyediaan serangga uji wereng coklat .....	23
3.4.2.2 Pembuatan suspensi spora jamur entomopatogen....	24

3.4.2.3 Pengaplikasian suspensi spora jamur entomopatogen pada wereng coklat .....	24
3.4.3 Identifikasi Molekuler .....	25
3.4.3.1 Ekstraksi DNA .....	25
3.4.3.1.1 Ekstraksi DNA dengan DNazol .....	25
3.4.3.1.2 Ekstraksi DNA secara manual.....	25
3.4.3.2 Amplifikasi DNA dengan PCR.....	26
3.4.3.3 Elektroforesis dan visualisasi hasil PCR.....	27
3.4.3.4 Sekuensing dan analisis hasilnya .....	28
3.5 Variabel Pengamatan .....	28
3.5.1 Pertumbuhan koloni jamur entomopatogen .....	28
3.5.2 Sporulasi jamur entomopatogen.....	29
3.5.3 Viabilitas spora jamur entomopatogen .....	29
3.5.4 Mortalitas wereng coklat setelah aplikasi jamur entomopatogen.....	30
3.6 Analisis Data .....	30
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>31</b>
4.1 Hasil.....	31
4.1.1 Uji pertumbuhan koloni jamur entomopatogen.....	31
4.1.2 Uji sporulasi jamur entomopatogen.....	33
4.1.3 Uji viabilitas jamur entomopatogen .....	34
4.1.4 Uji patogenisitas jamur entomopatogen pada wereng coklat	35
4.1.5 Analisis korelasi pertumbuhan, sporulasi, viabilitas spora dengan mortalitas wereng coklat.....	36
4.1.6 Analisis sekuensing ITS .....	37
4.2 Pembahasan .....	40
<b>V. SIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>48</b>
5.1 Simpulan .....	48
5.2 Saran .....	49
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>50</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>55</b>
Gambar 20-23 .....	56-59
Tabel 8-37 .....	60-93

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Delapan isolat jamur entomopatogen yang digunakan dalam penelitian.....	22
2. Pertumbuhan diameter koloni jamur entomopatogen.....	32
3. Sporulasi jamur entomopatogen .....	33
4. Viabilitas spora jamur entomopatogen .....	34
5. Mortalitas wereng coklat setelah aplikasi jamur entomopatogen.....	35
6. Korelasi pertumbuhan, sporulasi, viabilitas spora dengan mortalitas wereng coklat.....	36
7. Identitas masing-masing jamur entomopatogen .....	37
8. Data pertumbuhan jamur entomopatogen 1-14 hsi.....	60
9. Analisis ragam dan duncan pertumbuhan jamur entomopatogen 1 hsi (transformasi $\sqrt{x + 0,5}$ ) .....	64
10. Analisis ragam dan duncan pertumbuhan jamur entomopatogen 2 hsi (transformasi $\sqrt{x + 0,5}$ ) .....	65
11. Analisis ragam dan duncan pertumbuhan jamur entomopatogen 3 hsi (transformasi $\sqrt{x + 0,5}$ ) .....	66
12. Analisis ragam dan duncan pertumbuhan jamur entomopatogen 4 hsi (transformasi $\sqrt{x + 0,5}$ ) .....	67
13. Analisis ragam dan duncan pertumbuhan jamur entomopatogen 5 hsi (transformasi $\sqrt{x + 0,5}$ ) .....	68
14. Analisis ragam dan duncan pertumbuhan jamur entomopatogen 6 hsi (transformasi $\sqrt{x + 0,5}$ ) .....	69

15.	Analisis ragam dan duncan pertumbuhan jamur entomopatogen 7 hsi (transformasi $\sqrt{x + 0,5}$ ) .....	70
16.	Analisis ragam dan duncan pertumbuhan jamur entomopatogen 8 hsi (transformasi $\sqrt{x + 0,5}$ ) .....	71
17.	Analisis ragam dan duncan pertumbuhan jamur entomopatogen 9 hsi (transformasi $\sqrt{x + 0,5}$ ) .....	72
18.	Analisis ragam dan duncan pertumbuhan jamur entomopatogen 10 hsi (transformasi $\sqrt{x + 0,5}$ ) .....	73
19.	Analisis ragam dan duncan pertumbuhan jamur entomopatogen 11 hsi (transformasi $\sqrt{x + 0,5}$ ) .....	74
20.	Analisis ragam dan duncan pertumbuhan jamur entomopatogen 12 hsi (transformasi $\sqrt{x + 0,5}$ ) .....	75
21.	Analisis ragam dan duncan pertumbuhan jamur entomopatogen 13 hsi (transformasi $\sqrt{x + 0,5}$ ) .....	76
22.	Analisis ragam dan duncan pertumbuhan jamur entomopatogen 14 hsi (transformasi $\sqrt{x + 0,5}$ ) .....	77
23.	Data sporulasi jamur entomopatogen .....	78
24.	Analisis ragam dan duncan sporulasi jamur entomopatogen (transformasi $\sqrt{x + 0,5}$ ) .....	79
25.	Data viabilitas spora jamur entomopatogen .....	80
26.	Analisis ragam dan duncan viabilitas jamur entomopatogen (transformasi $\text{asin}(\sqrt{x/100}) * 180 / (22/7)$ ) .....	81
27.	Data mortalitas wereng coklat 1-10 hsa.....	82
28.	Analisis ragam mortalitas wereng coklat 1 hsa .....	84
29.	Analisis ragam mortalitas wereng coklat 2 hsa .....	85
30.	Analisis ragam mortalitas wereng coklat 3 hsa .....	86
31.	Analisis ragam dan duncan mortalitas wereng coklat 4 hsa.....	87
32.	Analisis ragam dan duncan mortalitas wereng coklat 5 hsa.....	88

	xvii
33. Analisis ragam dan duncan mortalitas wereng coklat 6 hsa.....	89
34. Analisis ragam dan duncan mortalitas wereng coklat 7 hsa.....	90
35. Analisis ragam dan duncan mortalitas wereng coklat 8 hsa.....	91
36. Analisis ragam dan duncan mortalitas wereng coklat 9 hsa.....	92
37. Analisis ragam dan duncan mortalitas wereng coklat 10 hsa.....	93

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Wereng coklat ( <i>N. lugens</i> ) .....	11
2. Jamur <i>Beauveria</i> sp.....	13
3. Jamur <i>Metarhizium</i> sp.....	14
4. Jamur <i>Penicillium</i> sp.....	15
5. Jamur <i>Aspergillus</i> sp.....	16
6. Stoples berisi tanaman padi.....	24
7. Dendogram hasil analisis genus <i>Beauveria</i> .....	37
8. Dendogram hasil analisis genus <i>Metarhizium</i> .....	38
9. Dendogram hasil analisis genus <i>Penicillium</i> .....	38
10. Dendogram hasil analisis genus <i>Aspergillus</i> .....	39
11. Dendogram hasil analisis genus <i>Talaromyces</i> .....	40
12. Serangga terinfeksi dan mikroskopis jamur isolat A1 ( <i>A. oryzae</i> ) .....	44
13. Serangga terinfeksi dan mikroskopis jamur isolat A2 ( <i>A. oryzae</i> ) .....	44
14. Serangga terinfeksi dan mikroskopis jamur isolat A3 ( <i>A. oryzae</i> ) .....	44
15. Serangga terinfeksi dan mikroskopis jamur isolat B1 ( <i>B. bassiana</i> ) ....	45
16. Serangga terinfeksi dan mikroskopis jamur isolat B2 ( <i>B. bassiana</i> ) ....	45
17. Serangga terinfeksi dan mikroskopis jamur isolat M ( <i>M. flavoviride</i> ) .	45
18. Serangga terinfeksi dan mikroskopis jamur isolat P ( <i>P. oxalicum</i> ) .....	46

	xix
19. Serangga terinfeksi dan mikroskopis jamur isolat A3 ( <i>T. sayulitensis</i> )	46
20. Pertumbuhan koloni jamur 14 hsi .....	56
21. Sporulasi jamur entomopatogen .....	57
22. Viabilitas spora jamur entomopatogen .....	58
23. Wereng coklat .....	59

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Padi merupakan tanaman pangan penting di Indonesia. Tanaman ini menghasilkan beras yang menjadi makanan pokok masyarakat. Berdasarkan Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian (2014), 90% dari masyarakat Indonesia masih mengonsumsi beras sebagai makanan pokok. Data BPS (2017), mencatat pada tahun 2015-2016 konsumsi beras perkapita Indonesia mengalami peningkatan dari 84,812 kg/tahun menjadi 86,736 kg/tahun. Meningkatnya konsumsi beras di Indonesia membuat peningkatan produksi padi terus dipacu agar kebutuhan pangan masyarakat dapat terpenuhi.

Dalam peningkatan produksi padi, terdapat beberapa kendala antara lain kekeringan, banjir, serta serangan hama dan penyakit. Hama merupakan salah satu gangguan yang terus menjadi masalah bagi petani.

Salah satu hama pada tanaman padi yang sering menyita perhatian ialah wereng coklat (*Nilaparvata lugens* Stal). Wereng coklat menyerang langsung tanaman padi dengan cara mengisap cairan sel tanaman hingga tanaman menjadi kering. Selain itu, wereng coklat menyerang secara tidak langsung dengan cara

mentransfer tiga virus yang berbahaya bagi tanaman padi, yaitu virus kerdil hampa, virus kerdil rumput tipe 1, dan virus kerdil rumput tipe 2 (Baehaki, 2011).

Kenmore (1979) dalam Baehaki & Widiarta (2009), melaporkan kerusakan dan kehilangan hasil yang diakibatkan oleh serangan wereng coklat cukup tinggi. Pemeliharaan 1 dan 4 ekor wereng coklat/batang pada periode anakan selama 30 hari dapat menurunkan hasil 35% dan 77%. Pemeliharaan 1 dan 4 ekor wereng coklat/batang pada masa tanaman padi sedang bunting selama 30 hari dapat menurunkan hasil 20% dan 37%. Pemeliharaan 4 ekor wereng coklat/batang pada masa pemasakan buah selama 30 hari dapat menurunkan hasil sebesar 28%.

Agar dapat menyelamatkan hasil produksi dari serangan hama maka hama harus dikendalikan. Saat ini, teknik pengendalian hama yang banyak dilakukan adalah penyemprotan dengan pestisida. Tingginya penggunaan pestisida disebabkan oleh berbagai faktor diantaranya dapat mengendalikan populasi hama secara cepat dan efektif, tersedia di pasaran, dan aplikasinya relatif mudah. Namun penggunaan pestisida yang berlebihan tersebut justru menimbulkan dampak negatif diantaranya membuat lingkungan tercemar, ancaman terhadap organisme non-target, dan permasalahan hama yang semakin rumit (Hasibuan, 2015).

Akibat dampak negatif yang ditimbulkan dari penggunaan pestisida, maka perlu dicari solusi untuk mengendalikan hama selain menggunakan pestisida. Salah satu cara pengendalian hama tanpa pestisida yaitu menggunakan jamur entomopatogen sebagai agensia pengendali hayati. Beberapa jamur yang diketahui dapat menginfeksi hama wereng coklat adalah *Beauveria bassiana* (Herlinda *et al.*,

2008), *Lecanicillium lecanii* (Khoiroh *et al.*, 2014), *Metarhizium anisopliae* (Setiawan, 2012), *Penicillium oxalicum* (Invasive Species Compendium, 2017), dan *Aspergillus niger* (Satpathi *et al.*, 2016).

Laboratorium Bioteknologi Pertanian Fakultas Pertanian (LBFPF) memiliki delapan isolat jamur hasil eksplorasi penelitian sebelumnya yang diduga sebagai jamur entomopatogen. Informasi tentang kemampuan delapan isolat jamur entomopatogen dalam menginfeksi wereng coklat belum pernah dilaporkan. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui patogenisitas jamur entomopatogen terhadap wereng coklat pada tanaman padi. Selain itu, untuk mengetahui identitas delapan jamur tersebut, perlu dilakukan identifikasi secara molekuler. Biasanya identifikasi jamur yang dilakukan hanya berdasarkan morfologi saja yaitu kenampakan makroskopis dan mikroskopisnya. Ternyata identifikasi berdasarkan morfologi tidak cukup untuk mengkonfirmasi identitas spesies dari jamur tersebut sehingga perlu dilakukan identifikasi lanjutan yaitu identifikasi molekuler.

## **1.2 Tujuan Penelitian**

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah:

1. Mempelajari pertumbuhan dan perkembangan delapan isolat jamur entomopatogen.
2. Mempelajari patogenisitas delapan jamur entomopatogen terhadap wereng coklat.
3. Mendapatkan isolat jamur entomopatogen terpilih sebagai agensia hayati pengendali wereng coklat.
4. Mempelajari identitas delapan isolat jamur entomopatogen.

### 1.3 Kerangka Pemikiran

Menurut Hasibuan (2015), penggunaan pestisida sintetik yang berlebihan membuat lingkungan tercemar dan menyebabkan masalah kesehatan. Selain berdampak pada lingkungan dan kesehatan, penggunaan pestisida sintetik juga menimbulkan resistensi hama. Baehaki (2016), melaporkan populasi wereng coklat di Sukamandi, Jawa Barat resisten terhadap penggunaan pestisida sintetik.

Akibat dampak negatif yang ditimbulkan oleh pestisida sintetik maka dicarilah cara pengendalian lain yang lebih baik. Salah satu pengendalian yang ramah lingkungan dan sedang banyak diteliti adalah pengendalian menggunakan jamur entomopatogen sebagai agensia pengendali hayati. Jamur entomopatogen dengan keragamannya yang tinggi mampu menghadirkan solusi yang berkelanjutan terhadap program pengelolaan hama terpadu, jamur ini bersifat ramah lingkungan dan bio-persisten (Gul *et al.*, 2014).

Jamur entomopatogen yang berasal dari daerah yang berbeda berpengaruh terhadap sporulasi serta viabilitas spora. Perwira (2015), melaporkan terdapat perbedaan sporulasi jamur *M. anisopliae* pada daerah isolat yang berbeda. Peneliti menguji sporulasi jamur *M. anisopliae* yang berasal dari UGM, Gadingrejo, Bantul, Tegineneng dan Trimurjo. Hasil yang didapatkan, sporulasi isolat UGM dengan hasil rata-rata  $2,31 \times 10^9$  spora/ml merupakan isolat dengan sporulasi paling tinggi dibandingkan dengan isolat Gadingrejo, Bantul, Tegineneng dan Trimurjo.

Thalib *et al.* (2013), melaporkan isolat *B. bassiana* dan *M. anisopliae* memiliki laju pertumbuhan, sporulasi, dan viabilitas spora yang berbeda. Sporulasi jamur isolat *B. Bassiana* mencapai  $63,33 \times 10^6$  spora/ml, sedangkan sporulasi *M. anisopliae* hanya mencapai  $38,33 \times 10^6$  spora/ml. Viabilitas spora isolat *B. bassiana* pada umur suspensi 72 jam mencapai 81,33%, sedangkan viabilitas spora isolat *M. anisopliae* pada umur suspensi 72 jam lebih rendah sebesar 34%.

Patogenisitas jamur entomopatogen pada wereng coklat sudah banyak dilaporkan. Berdasarkan penelitian Herlinda *et al.* (2008), didapatkan hasil bahwa formulasi cair bioinsektisida berbahan aktif jamur *B. bassiana* dan *Metarhizium* sp. efektif membunuh nimfa wereng coklat. Isolat *B. bassiana* dan *Metarhizium* sp. masing-masing membutuhkan waktu paling singkat 3,83 hari dan 3,60 hari untuk mematikan serangga inang. Lamanya waktu bagi spora jamur untuk mematikan inangnya karena spora pada integumen inang harus berkecambah terlebih dahulu.

Setiawan (2012), melaporkan *Metarhizium* sp. efektif menginfeksi hama wereng coklat dan tidak berpengaruh nyata pada mortalitas kumbang predator *Paederus fuscipes*. Hal ini menunjukkan bahwa jamur *Metarhizium* sp. selektif dalam mengendalikan hama. Jamur *Metarhizium* sp. nyata tidak efektif menyerang kumbang *P. fuscipes*, yaitu berkisar antara 1,3-2,5% dibandingkan terhadap inangnya wereng coklat sebesar 52-95%.

Jamur *Penicillium* sp. merupakan salah satu jamur entomopatogen yang dapat dimanfaatkan sebagai agensia hayati untuk mengendalikan hama tanaman. Diketahui terdapat sekitar 200 spesies *Penicillium* yang perannya berbeda-beda

(Mutmainnah, 2015). Invasive Species Compendium(2017), mengungkapkan *Penicillium oxalicum* dapat menginfeksi nimfa dan imago dari wereng coklat.

Satpathi *et al.* (2016), melakukan studi tentang jamur entomopatogen. Salah satu jamur entomopatogen yang dapat menginfeksi wereng coklat adalah *Aspergillus*.

Satpathi *et al.* (2016), melaporkan jamur *Aspergillus flavus* dapat menyebabkan kematian wereng coklat dari 20-30%, diikuti oleh jamur *Aspergillus niger* dari 15-20%.

Jamur entomopatogen memiliki kelimpahan dan keragaman spesies yang tinggi sehingga perlu dilakukan identifikasi. Salah satu cara yang dilakukan dengan menggunakan marka molekuler. Marka molekuler berdasarkan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) seperti sekuen *Internal Transcribe Spacer* (ITS) banyak digunakan dalam mempelajari keragaman genetik suatu populasi. Adanya perbedaan DNA menunjukkan keragaman genetik dan struktur populasi jamur yang berbeda (Aquino *et al.*, 2003 dalam Priyatno *et al.*, 2016).

#### **1.4 Hipotesis**

Berdasarkan kerangka pemikiran yang telah dikemukakan diajukan dua hipotesis bahwa:

1. Delapan isolat jamur entomopatogen mempunyai kemampuan tumbuh berbeda-beda.
2. Delapan isolat jamur entomopatogen mampu menginfeksi dan menyebabkan kematian wereng coklat.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tanaman Padi

Padi (*Oryza sativa* L.) merupakan salah satu tanaman pangan penting. Produksi padi di Indonesia menempati urutan pertama dari semua tanaman pangan (BPS, 2015).

Klasifikasi tanaman padi (Integrated Taxonomic Information System, 2017<sup>a</sup>):

Kingdom	: Plantae
Division	: Tracheophyta
Class	: Magnoliopsida
Order	: Poales
Family	: Poaceae
Genus	: <i>Oryza</i> L.
Spesies	: <i>Oryza sativa</i> L.

Rincian singkat mengenai morfologi padi sebagai berikut gabah padi terdiri atas biji yang terbungkus oleh sekam. Akar padi termasuk golongan akar serabut yang memiliki kekuatan mengoksidasi lingkungan sekitarnya yang disebut dengan *oxydizing power*. Kemampuan ini menyebabkan akar tanaman padi lebih toleran terhadap keracunan besi. Daun padi memiliki morfologi tumbuh pada batang dalam susunan berselang seling, satu daun pada tiap buku. Tiap daun terdiri atas helai daun, pelepah daun, telinga daun, dan lidah daun. Batang padi terdiri dari beberapa ruas yang dibatasi oleh buku. Daun dan tunas tumbuh pada buku. Pada

permukaan stadia tumbuh batang terdiri atas pelepah-pelepah daun dan ruas-ruas yang tertumpuk padat. Dan terakhir bunga padi, secara keseluruhan bunga padi disebut malai. Bunga terdiri atas tangkai, bakal buah, lemma, palea, putik, dan benang sari (Makarim & Suhartatik, 2009).

Syarat tumbuh bagi tanaman padi diantaranya suhu optimum untuk pertumbuhan tanaman padi berkisar antara 24-29 °C. Reaksi tanah (pH) optimum berkisar antara 5,5-7,5. Permeabilitas pada sub horison kurang dari 0,5 cm/jam. Pada lahan kering, dibutuhkan curah hujan yang optimum >1.600 mm/tahun, sedangkan pada lahan basah (sawah irigasi), curah hujan bukan merupakan faktor pembatas tanaman padi (Badan Ketahanan Pangan dan Penyuluh Pertanian Aceh, 2009).

Siklus hidup tanaman padi dibagi kedalam tiga fase yaitu vegetatif (awal pertumbuhan sampai pembentukan bakal malai/primordia), reproduktif (primordia sampai pembungaan), dan pematangan (pembungaan sampai gabah matang).

Lama fase vegetatif beragam, sedangkan untuk fase reproduktif di daerah tropik sekitar 35 hari dan fase pematangan sekitar 30 hari. Sebagai contoh IR 64 matang dalam 110 hari mempunyai fase vegetatif 45 hari, sedangkan IR 8 matang dalam 130 hari mempunyai fase vegetatif 65 hari (Makarim & Suhartatik, 2009).

## 2.2 Wereng Coklat

Wereng coklat (*Nilaparvata lugens* Stal.) merupakan salah satu hama penting tanaman padi di Indonesia (Gambar 1). Ciri utama wereng coklat adalah adanya bintik hitam pada sayap bagian depan dan pada taji tungkai tulang belakang, punggungnya terdapat tiga garis memanjang berwarna coklat muda, bila dilihat dari samping garis ubun-ubun rata dan sejajar dengan garis batas leher (Basri, 2012).

Klasifikasi wereng coklat (Integrated Taxonomic Information System, 2017<sup>b</sup>):

Kingdom : Animalia  
Phylum : Arthropoda  
Class : Insecta  
Order : Hemiptera  
Family : Delphacidae  
Genus : *Nilaparvata*  
Spesies : *Nilaparvata lugens* Stal.

Wereng coklat mempunyai sifat plastis, yaitu mudah beradaptasi pada keadaan atau kondisi lingkungan baru. Wereng coklat menyerang tanaman secara langsung dengan mengisap cairan dan secara tidak langsung sebagai vektor (penular) virus penyakit kerdil rumput (*grassy stunt*) dan kerdil hampa (*ragged stunt*) (Nurbaeti *et al.*, 2010).

Wereng coklat memiliki panjang tubuh 2-4,4 mm. Serangga dewasa mempunyai 2 bentuk, yaitu bersayap pendek (brakhiptera) dan bersayap panjang (makroptera).

Umumnya wereng brakhiptera bertubuh lebih besar, mempunyai tungkai dan peletak telur lebih panjang. Kemunculan wereng makroptera lebih banyak pada

tanaman tua daripada tanaman muda, dan lebih banyak pada tanaman setengah rusak daripada tanaman sehat. Wereng makroptera mempunyai kemampuan untuk terbang, sehingga dapat bermigrasi cukup jauh (Nurbaeti *et al.*, 2010).

Wereng coklat mempunyai siklus hidup yang relatif pendek. Siklus hidupnya berkisar 23 -33 hari yang terinci masa inkubasi telur wereng coklat antara 7-11 hari, stadia nimfa antara 10-15 hari, dan pra-oviposisi 3-4 hari (Basri, 2012).

Jumlah telur yang diletakkan serangga dewasa sangat beragam, dalam satu kelompok antara 3-21 butir. Seekor wereng betina selama hidupnya menghasilkan telur antara 270-902 butir yang terdiri atas 76-142 kelompok. Telur menetas antara 7-11 hari dengan rata-rata 9 hari (Nurbaeti *et al.*, 2010).

Metamorfosis wereng coklat sederhana atau bertingkat (hetero metabola).

Serangga muda yang menetas dari telur disebut nimfa, makanannya sama dengan induknya. Nimfa mengalami 5 kali pergantian kulit (instar). Lamanya waktu untuk menyelesaikan stadium nimfa beragam. Nimfa dapat berkembang menjadi dua bentuk wereng dewasa yaitu bersayap panjang (makroptera) dan bersayap kerdil (brakhiptera) (Nurbaeti *et al.*, 2010).

Kerusakan tanaman yang ditimbulkan akibat serangan wereng coklat bisa serius.

Serangan 1 dan 4 ekor wereng coklat/batang pada periode anakan selama 30 hari dapat menurunkan hasil 35% dan 77%. Serangan 1 dan 4 ekor wereng coklat/batang pada masa bunting selama 30 hari dapat menurunkan hasil berturut-turut 20% dan 37%. Serangan 4 ekor wereng coklat/batang pada masa pemasakan

buah selama 30 hari dapat menurunkan hasil sebesar 28%. Apabila populasi tinggi, maka gejala kerusakan yang terlihat di lapangan, yaitu warna daun dan batang tanaman berubah menjadi kuning, kemudian berubah menjadi berwarna coklat jerami, dan akhirnya seluruh tanaman bagaikan disiram air panas berwarna kuning coklat dan mengering (*hopperburn*) (Nurbaeti *et al.*, 2010).



Gambar 1. Wereng coklat (*N. lugens*) (perbesaran 20x)

### 2.3 Pengendalian Hayati

Predator, parasitoid, dan serangga patogen telah lama digunakan manusia untuk mengendalikan hama, namun istilah pengendalian hayati (*biological control*) untuk kegiatan tersebut baru dimulai pada tahun 1919 yang dikenalkan oleh Harry Smith dari Universitas Colifornia. Harry Smith mendefinisikan pengendalian hayati sebagai penurunan populasi serangga sebagai aksi/kinerja dari musuh alaminya (Purnomo, 2010).

Kesuksesan sebuah pengendalian hayati umumnya terjadi apabila ada pola hubungan yang kuat antara hama dan musuh alaminya. Sebuah kenyataan memperlihatkan regulasi populasi sering terjadi di alam secara alami. Sederhana

atau tidak, dasar dibalik program introduksi dan konservasi pengendalian hayati adalah pengendalian alami yang dapat digunakan untuk mengendalikan hama (Purnomo, 2010).

#### **2.4 Jamur Entomopatogen**

Jamur entomopatogen adalah mikroorganisme heterotrof yang hidup parasit pada serangga. Jamur entomopatogen sangat bervariasi dalam mode aksi dan virulensinya. Infeksi yang sukses tergantung pada kemampuan penetrasi jamur ke inang integumen. Berbagai enzim ekstraselular diproduksi selama degradasi integumen serangga (Shahid *et al.*, 2012).

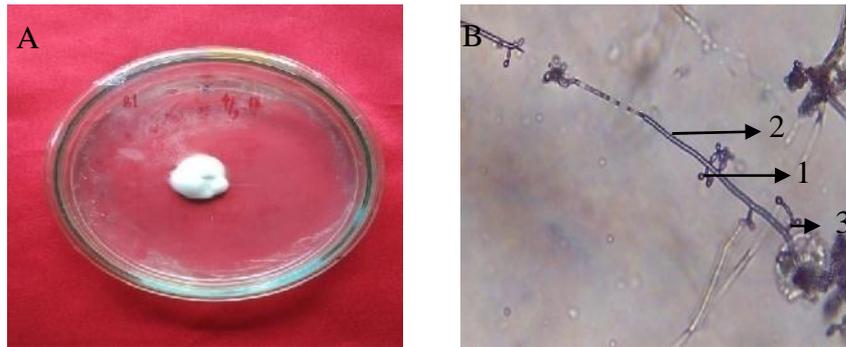
Kelebihan dari jamur entomopatogen diantaranya dapat meminimalisir residu pestisida dalam makanan, mengurangi dampak negatif terhadap operator dan organisme non-target, dan meningkatkan keanekaragaman hayati dalam ekosistem yang dikelola (Shahid *et al.*, 2012).

Mekanisme virulensi jamur ini yaitu spora atau konidia menempel pada lapisan kutikula serangga target dan berkecambah, lalu penyerangan dilanjutkan ke dalam tubuh serangga target dan sistem sirkulasi (hemolimfa). Pada tubuh serangga yang sudah mati, jamur akan muncul dari dalam bangkai serangga target dan konidia akan keluar bangkai hingga menemukan kembali serangga target berikutnya (Samson *et al.*, 1988 dalam Septiana, 2015).

Perbedaan antara penggunaan jamur entomopatogen dengan organisme patogen serangga lainnya ialah cara infeksi. Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya, cara infeksi sebagian besar jamur entomopatogen melalui penempelan pada lapisan kutikula tubuh serangga target. Sedangkan entomopatogen selain jamur seperti *Bacillus thuringiensis* akan menginfeksi serangga target melalui proses termakan terlebih dahulu. Setelah beberapa waktu, serangga akan mengalami gangguan makan, kelaparan, dan akhirnya mati (Gill, 1995 dalam Septiana, 2015).

#### **2.4.1 *Beauveria* sp.**

Menurut Hasibuan (2015), jamur ini dikenal dengan nama umum *White Muscardine Fungus* yang berhubungan dengan munculnya konidiofor berwarna putih yang menutupi tubuh inang (Gambar 2). Jamur entomopatogen *B. bassiana* memproduksi beauvericin yang mengakibatkan gangguan pada fungsi hemolimfa dan inti sel serangga inang. Seperti umumnya jamur, *B. bassiana* menginfeksi serangga inang melalui kontak fisik, yaitu dengan menempelkan konidia pada integumen. Perkecambahan konidia terjadi dalam 1-2 hari kemudian dan menumbuhkan miseliana di dalam tubuh inang. Serangga yang terinfeksi biasanya akan berhenti makan sehingga menyebabkan imunitasnya menurun, 3- 5 hari kemudian mati dengan ditandai adanya pertumbuhan konidia pada integumen (Deciyanto & Indrayani, 2008).



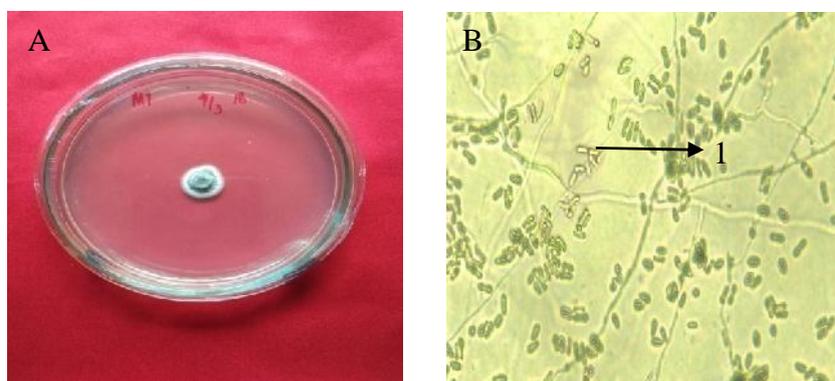
Gambar 2. Jamur *Beauveria* sp. A. Koloni jamur 7 hari; B. Mikrokopis (perbesaran 400x) 1. Konidia, 2. Hifa, 3. Konidiogenous

#### 2.4.2 *Metarhizium* sp.

Pada awal pertumbuhan, koloni jamur *Metarhizium* sp. berwarna putih, kemudian berubah menjadi hijau gelap dengan bertambahnya umur koloni (Gambar 3).

Miselium tersusun tegak, berlapis dan bercorak yang dipenuhi dengan konidia bersel satu berwarna hialin, berbentuk bulat silinder. Konidiofor tersusun rapat dengan struktur seperti spodokium (Hasibuan, 2015). Destruksins (DTXs) merupakan senyawa kimia yang diproduksi oleh *Metarhizium*. DTXs terbukti bersifat racun pada serangga sehingga menyebabkan kematian serangga.

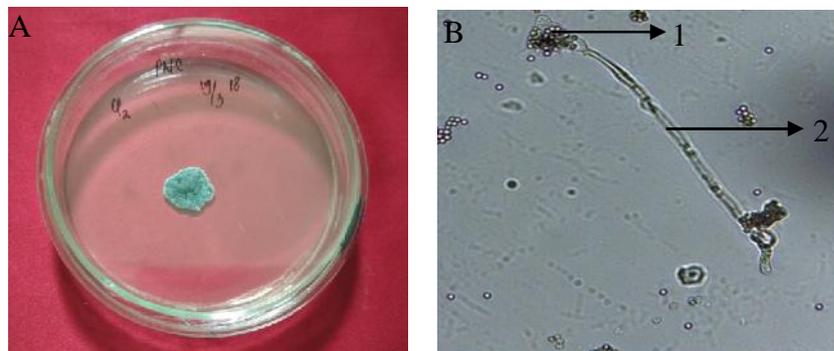
Destruksins bertindak sebagai racun neuromuskular yang menyebabkan kelumpuhan otot serangga (Samuels, 1998).



Gambar 3. Jamur *Metarhizium* sp. A. Koloni umur 7 hari; B. Mikrokopis (perbesaran 400x) 1. Konidia

### 2.4.3 *Penicillium* sp.

Koloni *Penicillium* sp. biasanya berwarna hijau, terkadang putih, sebagian besar memiliki konidiofor (Gambar 4). Konidiofor tunggal (mononematus) atau majemuk (synematous), terdiri dari batang tunggal membagi beberapa phialid (sederhana/monoverticillata). Phialid merupakan struktur yang menopang konidia, berbentuk silindris dibagian basal yang menyempit dibagian leher, atau lancoelate (kurang lebih sebagian bagian basal tertanam pada bagian ujung pucuk). Konidia berbentuk rantai panjang, divergent atau kolom, globular, elips atau fusiform, transparan atau kehijauan, dengan dinding mulus atau bergelombang (Gandjar, *et al.*, 1984 dalam Purwantisari & Hastuti, 2009). Jamur ini menghasilkan toksin, antara lain asam penisilin, ochratoxin dan citrinin yang bisa menginfeksi serangga (Agus *et al.*, 2015).

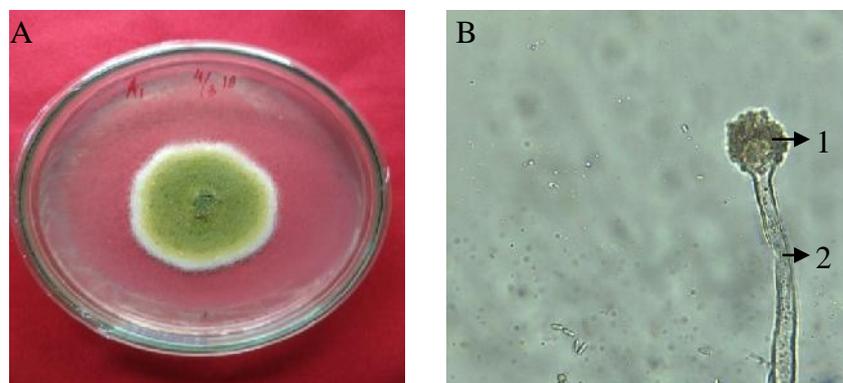


Gambar 4. Jamur *Penicillium* sp. A. Koloni jamur umur 7 hari; B. Mikrokopis (perbesaran 400x) 1. Konidia, 2. Konidiofor

#### 2.4.4 *Aspergillus* sp.

Koloni *Aspergillus* sp. terdiri atas beberapa warna diantaranya berwarna hitam, kuning muda, kuning kecoklatan, coklat, kuning sampai hijau, hijau gelap, oranye, abu-abu, merah, merah oranye, ungu merah, dan ungu gelap (Afzal *et al.*, 2013).

*Aspergillus* sp. terdiri atas kepala konidia, konidia, fialid, vesikel dan konidiofor (Gambar 5). Kepala konidia adalah struktur yang terletak di bagian terminal konidiofor, berbentuk bulat (globose) atau semibulat (subglobose) tersusun atas vesikel, metula (jika ada), fialid dan konidia. Vesikel adalah pembesaran konidiofor pada bagian apeksnya membentuk suatu struktur berbentuk globose, hemisferis, elips atau clavate. Konidiofor merupakan suatu struktur tegak lurus yang muncul dari sel kaki dan pada ujungnya menghasilkan kepala konidia (Samson & Hockstra, 1988 dalam Mizana *et al.*, 2016). *Aspergillus* merupakan jamur yang dapat mensekresikan enzim selulase, kitinase, -amilase, glukoamilase, katalase, pektinase, lipase, laktase, invertase, dan asam protease. Kitinase mempunyai banyak manfaat salah satunya sebagai antihama karena sifatnya yang dapat mematikan serangga (entomopatogenisitas) (Purkan *et al.*, 2016).



Gambar 5. Jamur *Aspergillus* sp. A. Koloni jamur 7 hari; B. Mikrokopis (perbesaran 400x) 1. Konidia, 2. Konidiofor

## ***2.5 Polymerase Chain Reaction***

*Polymerase Chain Reaction* (PCR) adalah teknik ilmiah dalam biologi molekular untuk memperkuat satu atau beberapa salinan dari sepotong DNA. Reaksi rantai polimerase dikembangkan pada tahun 1984 oleh orang Amerika ahli biokimia, Kary Mullis (Joshi & Desphande, 2010).

Prinsip dasar PCR yaitu satu molekul DNA digunakan untuk menghasilkan dua salinan, lalu empat, lalu delapan dan seterusnya. Penggandaan terus menerus ini dilakukan oleh protein spesifik yang dikenal sebagai polimerase, enzim yang mampu mengikat bersama-sama DNA untuk membentuk untaian molekul yang panjang. Untuk melakukannya, polimerase memerlukan blok bangunan DNA, yaitu nukleotida terdiri dari empat basis adenin (A), timin (T), sitosin (C), dan guanin (G). Selain itu, dibutuhkan fragmen DNA, yang dikenal sebagai primer yang berfungsi sebagai pembatas fragmen DNA target yang akan diamplifikasi dan sekaligus menyediakan gugus hidroksi (-OH) pada ujung 3' yang diperlukan untuk proses ekstensi DNA (Joshi & Desphande, 2010).

Ada tiga langkah utama yang harus dilakukan dalam teknik PCR yaitu *denaturation*, *annealing*, dan *extension*. Pada langkah pertama, DNA didenaturasi pada suhu tinggi antara 90-97°C. Fase *annealing* terjadi pada suhu yang lebih rendah yaitu 50-60°C. Hal ini memungkinkan untuk proses penempelan primer. *Extension* terjadi di akhir primer *annealing* pada suhu kira-kira 72 °C untuk membuat untaian *copy* komplementer DNA (Joshi & Desphande, 2010).

Keunggulan PCR didasarkan atas spesifitas, efisiensi dan keakuratannya. Spesifitas PCR terletak pada kemampuannya mengamplifikasi sehingga menghasilkan produk melalui sejumlah siklus. Keakuratan PCR tinggi karena DNA polymerase mampu menghindari kesalahan pada amplifikasi produk. Efisiensi karena dengan metode PCR dapat diperoleh pelipatgandaan suatu fragmen DNA (110 bp,  $5 \times 10^{-9}$  mol) sebesar 200.00 kali setelah dilakukan 20 siklus reaksi selama 220 menit. Reaksi ini dilakukan dengan menggunakan komponen dalam jumlah sangat sedikit, DNA cetakan yang diperlukan hanya sekitar 5  $\mu$ g oligonukleotida. Masalah yang berkenaan dengan PCR yaitu biaya PCR yang masih tergolong tinggi. Hasil pemeriksaan PCR dapat membantu untuk menegakkan diagnosa sepanjang pemeriksaan tersebut dikerjakan dengan cara yang benar dan sesuai dengan standar internasional (Yusuf, 2010).

## **2.6 Elektroforesis**

Elektroforesis adalah suatu teknik pemisahan molekul selular berdasarkan ukurannya, dengan menggunakan medan listrik yang dialirkan pada suatu medium yang mengandung sampel yang akan dipisahkan. Teknik elektroforesis DNA biasanya dilakukan misalnya untuk menganalisis fragmen-fragmen DNA hasil pemotongan dengan enzim restriksi. Fragmen molekul yang telah dipotong-potong dapat ditentukan ukurannya dengan cara membuat gel agarosa. Gel agarosa dibuat dengan cara melarutkannya dalam suatu *buffer* menggunakan oven gelombang mikro. Dalam keadaan panas, gel akan berupa cairan sehingga mudah dituang di atas lempengan yang biasanya terbuat dari Perspex. Sebelum memadat,

pada ujung gel tersebut dibuat lubang-lubang dengan menggunakan lembaran Perspex tipis yang dibentuk menyerupai sisir. Ke dalam lubang itulah sampel molekul DNA dimasukkan (Yuwono, 2010).

Gel agarosa yang sudah terbentuk lalu dimasukkan ke dalam suatu tanki yang berisi larutan *buffer*. Setelah DNA dimasukkan ke dalam lubang sampel, arus listrik dialirkan. Kutub sejajar dengan lubang sampel DNA berupa kutub negatif, sedangkan kutub lainnya positif. Oleh karena molekul DNA bermuatan negatif maka molekul DNA akan bergerak ke arah kutub positif. Setelah beberapa waktu, gel direndam dalam larutan *etidium bromida* yang berfungsi untuk menampakan citra pita pada saat visualisasi karena etbr memendarkan sinar ultraviolet (Yuwono, 2010).

### III. BAHAN DAN METODE

#### 3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan mulai Januari 2018 sampai Mei 2018. Wereng coklat diambil dari Balai Proteksi Tanaman Trimurjo, Lampung Tengah. Perbanyakan wereng coklat, peremajaan, identifikasi molekuler delapan jamur entomopatogen serta aplikasi delapan jamur entomopatogen pada wereng coklat dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

#### 3.2 Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah serangga uji nimfa wereng coklat keturunan F2 instar ketiga, delapan jamur entomopatogen koleksi LBFP Universitas Lampung (2 isolat *Beauveria* spp., 1 isolat *Metarhizium* sp., 1 isolat *Penicillium* sp., dan 4 isolat *Aspergillus* spp.), tanaman padi, alkohol 70%, akuades, media PDA Himedia<sup>®</sup> India, asam laktat, Tween 80, DNAzol<sup>®</sup>, ethidium bromide (EtBr), DNA primer (ITS1 dan ITS4), CTAB (*Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide*) buffer, PCI (*Phenol Chloro Isoamil*), CI (*Chloro Isoamil*), isopropanol, MyTaq<sup>™</sup> Red Mix, marker DNA leader, loading dye, TE (*Tris-EDTA*) buffer, TBE (*Tris-borate-EDTA*) buffer, agarose, tisu.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gelas ukur, timbangan elektrik, penggaris, erlenmeyer, mortar, bunsen, cawan petri, *haemocytometer*, stoples plastik, aspirator, kain kasa, kuas, gelang karet, *hand sprayer*, aluminium foil, plastik tahan panas, parafilm, bor gabus, jarum ose, plastik wrap, kertas label, nampan, sisir dan cetakan agar, tip 0 – 1000  $\mu$ l, mikropipet 0 – 1000  $\mu$ l, *freezer*, *microwave*, *autoclave*, *laminar air flow*, *shaker*, mikroskop, kamera, *test tube*, *waterbath*, *sentrifuse*, UPS, mesin PCR, alat elektroforesis, dan *Digi-Doc*.

### 3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini terdiri dari 3 sub bagian :

1. Uji pertumbuhan dan perkembangan delapan jamur entomopatogen secara *in vitro*

Uji ini disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 8 perlakuan terdiri dari 2 isolat *Beauveria* spp. (B1 dan B2), *Metarhizium* sp. (M), *Penicillium* sp. (P), *Talaromyces* sp. (A3), dan 3 isolat *Aspergillus* spp. (A1, A2, dan A4). Seluruh perlakuan diulang sebanyak tiga kali.

2. Uji patogenisitas delapan isolat jamur entomopatogen pada wereng coklat

Uji ini disusun dalam Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 9 perlakuan terdiri dari 2 isolat *Beauveria* spp. (B1 dan B2), *Metarhizium* sp. (M), *Penicillium* sp. (P), *Talaromyces* sp. (A3), 3 isolat *Aspergillus* spp. (A1, A2, dan A4), dan kontrol (Tween 80 0,1%) (K). Seluruh perlakuan diulang sebanyak tiga kali. Dalam satu satuan percobaan menggunakan 12 ekor wereng, sehingga dibutuhkan 324 ekor wereng.

3. Identifikasi molekuler delapan isolat jamur entomopatogen

Identifikasi dilakukan menggunakan primer ITS 1 dan ITS 4.

### 3.4 Pelaksanaan Penelitian

#### 3.4.1 Uji pertumbuhan dan perkembangan delapan jamur entomopatogen

##### 3.4.1.1 Penyediaan delapan isolat jamur entomopatogen

Delapan jamur entomopatogen yang digunakan merupakan koleksi LBFPF, hasil inventarisasi dari Semenguk (2016). Delapan jamur yang akan digunakan yaitu 2 isolat *Beauveria* spp.(B1 dan B2), *Metarhizium* sp. (M), *Penicillium* sp. (P), *Talaromyces* sp. (A3), dan 3 isolat *Aspergillus* spp. (A1, A2, A4) (Tabel 1). Delapan jamur entomopatogen kemudian diremajakan untuk pengujian lebih lanjut.

Tabel 1. Delapan isolat jamur entomopatogen yang digunakan dalam penelitian

Isolat	Kode Isolat	Asal Isolat
<i>Beauveria</i> sp.1	B1	Rhizosfer jagung, Negeri Katon, Pesawaran
<i>Beauveria</i> sp.2	B2	Walang sangit terinfeksi, Tanggamus
<i>Metarhizium</i> sp.	M	Rhizosfer jagung, Natar, Lampung Selatan
<i>Penicillium</i> sp.	P	Walang sangit terinfeksi, Lampung Tengah
<i>Talaromyces</i> sp.	A3	Rhizosfer jagung, Negeri Katon, Pesawaran
<i>Aspergillus</i> sp.1	A1	Rhizosfer jagung, Sukaharja, Lampung Selatan
<i>Aspergillus</i> sp.2	A2	Rhizosfer jagung, Sidosari, Lampung Selatan
<i>Aspergillus</i> sp.3	A4	Rhizosfer jagung, Rejoagung, Pesawaran

Sumber : Semenguk (2016).

##### 3.4.1.2 Pembuatan media *Potato Dextrose Agar* (PDA)

Pembuatan media PDA dilakukan dengan menimbang bubuk PDA

(Himedia® India) sebanyak 39 gr dan agar batang sebanyak 2 gr lalu dilarutkan

dalam aquades 1 L dengan cara dipanaskan di dalam *microwave*. Kemudian media

PDA di *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit. Setelah di *autoclave*, media PDA ditambahkan larutan asam laktat sebanyak 1,4 ml untuk mencegah media terkontaminasi oleh bakteri.

#### 3.4.1.3 Inokulasi delapan jamur entomopatogen pada media PDA Himedia

Masing-masing jamur entomopatogen berumur 3 hari diinokulasi dengan cara mengambil satu bor gabus biakan jamur berukuran 5 mm lalu diletakkan ditengah media PDA di dalam cawan petri ukuran 90 mm. Inokulasi jamur entomopatogen dilakukan di dalam *Laminar Air Flow* agar hasil inokulasi tidak kontaminan dengan mikroorganisme lain. Untuk mengukur diameter pertumbuhan jamur, jamur diinkubasi selama 14 hari. Sedangkan untuk menghitung sporulasi serta viabilitas spora, jamur diinkubasi selama 7 hari.

### **3.4.2 Uji patogenesis delapan isolat jamur entomopatogen pada wereng coklat**

#### 3.4.2.1 Penyediaan serangga uji wereng coklat

Nimfa dan imago wereng coklat diperoleh dari hasil perbanyakan di Balai Proteksi Tanaman Trimurjo, Lampung Tengah. Wereng coklat diambil dengan bantuan aspirator lalu dimasukkan ke dalam stoples berdiameter 14 cm yang berisi tanaman padi (Gambar 6). Kemudian wereng coklat dibawa ke Laboratorium Bioteknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung untuk diperbanyak. Dalam satu stoples tanaman padi dimasukkan 20-30 wereng coklat. Jika tanaman padi dalam stoples sudah terlihat kering akibat hisapan

wereng coklat maka wereng coklat dipindahkan ke stoples tanaman padi baru. Nimfa instar 1 hasil perbanyakan dipindahkan ke stoples tanaman padi baru agar kebutuhan pakan tercukupi. Untuk pengujian patogenesis digunakan nimfa wereng coklat keturunan kedua (F2) atau setelahnya dengan instar ketiga.



Gambar 6. Stoples berisi tanaman padi

#### 3.4.2.2 Pembuatan suspensi spora jamur entomopatogen

Pembuatan suspensi jamur entomopatogen dilakukan dengan cara cawan petri yang berisi koloni pertumbuhan jamur entomopatogen berumur 7 hari ditambahkan 0,1% Tween 80 sebanyak 10 ml. Spora jamur dipanen menggunakan drigalski. Setelah itu, suspensi dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer dan *dishaker* agar suspensi tersebut homogen.

#### 3.4.2.3 Pengaplikasian suspensi spora jamur entomopatogen pada wereng coklat

Suspensi jamur entomopatogen yang telah diperoleh diaplikasikan pada wereng coklat dengan cara suspensi jamur entomopatogen sebanyak 10 ml dimasukkan ke dalam *handsprayer* atau alat semprot. Wereng coklat diambil dengan aspirator

lalu ditaruh ke dalam cawan petri. Kemudian wereng coklat di dalam cawan petri disemprot dengan masing-masing suspensi jamur entomopatogen sebanyak 2 ml. Wereng yang sudah disemprot lalu dipindahkan pada stoples berisi tanaman padi menggunakan kuas. Pada perlakuan kontrol hanya disemprotkan 0,1 % Tween 80.

### **3.4.3 Identifikasi Molekuler**

#### 3.4.3.1 Ekstraksi DNA

##### 3.4.3.1.1 Ekstraksi DNA dengan DNAzol<sup>®</sup>

Isolat jamur entomopatogen dipanen dan dimasukkan ke dalam tube 1,5ml. Kemudian disentrifuse 14.000 rpm selama 10 menit. Setelah itu, supernatan dibuang dan diambil spora jamur dalam tube sebanyak 20 $\mu$ l. Spora jamur ditaruh ke tube kecil dan ditambahkan 50  $\mu$ l DNAzol<sup>®</sup>. Ekstraksi DNA dapat dipakai jika sudah diinkubasi minimal 15 menit dalam suhu ruang.

##### 3.4.3.1.2 Ekstraksi DNA secara manual

Isolat jamur entomopatogen dipanen dengan menambahkan 10 ml aquades steril dan dimasukan ke dalam tabung sampel. Kemudian tabung sampel berisi suspensi jamur entomopatogen disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 14.000 rpm. Setelah disentrifugasi ke dalam tabung ditambahkan 1 ml alkohol dingin dan disentrifugasi kembali selama 10 menit dengan kecepatan 14.000 rpm. Selesai disentrifugasi, supernatan dibuang hingga menyisakan pelet. Pelet ditambahkan

1 ml *buffer* lalu dipindahkan ke dalam mortar dan diinkubasi di dalam *freezer* selama 1 hari. Selanjutnya hasil inkubasi digerus selama 15 menit. Hasil gerusan dimasukan ke dalam tube berukuran 1,5 ml sebanyak 500 µl dan ditambahkan CTAB sebanyak 400 µl lalu diinkubasi selama 1 jam dengan suhu 65°C dengan menggunakan *waterbath*. Setelah di*waterbath* ke dalam tube ditambahkan 500 µl PCI dengan perbandingan 25 : 24 : 1 dan disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 14.000 rpm. Supernatan hasil sentrifugasi diambil sebanyak 600 µl lalu dipindahkan ke dalam tube baru serta ditambahkan CI sebanyak 600 µl dan disentrifugasi kembali selama 10 menit dengan kecepatan 14.000 rpm. Kemudian diambil kembali supernatan sebanyak 400 µl dan dipindahkan ke dalam tube baru serta ditambahkan isopropanol sebanyak 400 µl. Setelah itu tube sampel diinkubasi ke dalam freezer selama 20 menit dan disentrifugasi kembali selama 10 menit dengan kecepatan 14.000 rpm. Selesai disentrifugasi supernatan didalam tube dibuang dan ditambahkan alkohol 70% dingin sebanyak 500 µl, lalu disentrifugasi kembali selama 10 menit dengan kecepatan 14.000 rpm. Kemudian alkohol dibuang dan pelet diinkubasi selama 1 hari pada suhu ruang. Setelah kering tube berisi pelet ditambahkan 50 mikron TE.

#### 3.4.3.2 Amplifikasi DNA dengan PCR

Sebanyak 12,5 µl *Master Mix (Red Mix)* dimasukkan ke dalam tube kecil lalu ditambahkan primer ITS 1 (5'TCC GTA GGT GAA CCT TGC GG 3') dan ITS 4 (5'TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC 3') (White *et al.*, 1990) (masing-masing sebanyak 1 µl, larutan DNA jamur entomopatogen sebanyak 2 µl dan aquades steril sebanyak 8,5 µl. Larutan yang sudah dibuat kemudian diamplifikasi

menggunakan mesin PCR (*CFX Connect Real-Time PCR* (Bio-RAD)). PCR dilakukan dengan 5 tahap, yaitu inisiasi, denaturasi, annealing, ekstensi, dan elongasi. Tahap inisiasi dilakukan pada suhu 95°C selama 5 menit (1 kali siklus), dilanjutkan dengan 30 siklus tahap denaturasi pada suhu 95°C selama 1 menit, annealing isolat A1, A2, A3, A4, B1, M pada suhu 48°C; isolat B2 pada suhu 52°C dan isolat P pada suhu 46 °C selama 1 menit dan ekstensi pada suhu 72°C selama 1 menit. Terakhir tahap elongasi pada suhu 72°C selama 5 menit (1 kali siklus).

#### 3.4.3.3 Elektroforesis dan visualisasi hasil PCR

Dibuat gel agarose 0,5% yang sudah ditambah 1 µl ethidium bromide (EtBr 10 mg/ml), lalu dituangkan pada cetakan dengan sisir. Kemudian gel agarose padat dimasukkan ke dalam alat elektroforesis berisi larutan TBE. Pada sumur pertama agar dimasukkan 3 µl Marker DNA *leader*. Selanjutnya, setiap sumur diberikan sebanyak 3 µl ekstraksi DNA yang sudah dicampur dengan 1 µl *loading dye* sebagai pemberat. Lalu dilakukan elektroforesis dengan tegangan 50 volt selama 60-70 menit. DNA akan bergerak dari muatan negatif ke muatan positif dimana fragmen DNA akan dipisahkan menjadi pita-pita yang masing-masing terdiri atas molekul DNA dengan panjang yang sama. Elektroforesis dihentikan saat DNA berada ditengah-tengah baris 3 dan 4 dari ujung lawan. Hasil elektroforesis divisualisasi dengan *Digi-Doc-Imaging System*. Keberadaan profil DNA akan terlihat berupa pita terang.

#### 3.4.3.4 Sekuensing dan analisis hasilnya

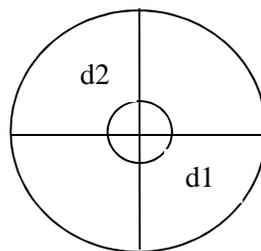
Hasil PCR kemudian dikirim ke PT Genetika Science Jakarta untuk disekuensing. Analisis hasil sekuensing dilakukan menggunakan program MEGA 6 (Tamura, 2013).

### 3.5 Variabel Pengamatan

Variabel pengamatan dari penelitian ini yaitu pertumbuhan koloni, sporulasi, dan viabilitas spora delapan isolat jamur entomopatogen serta mortalitas wereng coklat setelah aplikasi jamur entomopatogen.

#### 3.5.1 Pertumbuhan koloni jamur entomopatogen

Pengamatan pertumbuhan koloni jamur entomopatogen dilakukan dengan mengukur diameter koloni jamur setiap hari dari 1 hari setelah inokulasi sampai 14 hari setelah inokulasi. Cara pengukuran diameter jamur pada cawan petri sebagai berikut :



Rumus menghitung diameter koloni jamur :

$$D = \frac{d1+d2}{2}$$

Keterangan :

d1 = diameter horizontal koloni jamur entomopatogen (cm)

d2 = diameter vertikal koloni jamur entomopatogen (cm)

D = diameter koloni jamur entomopatogen (cm)

### 3.5.2 Sporulasi jamur entomopatogen

Sporulasi jamur dihitung dengan metode hitungan mikroskopis langsung menggunakan *haemocytometer*. Suspensi spora jamur yang sudah diinkubasi selama 7 hari dipanen dengan menambahkan 10 ml aquades. Hasil panen dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu dirotamixer selama satu menit. Kemudian sebanyak 1 tetes suspensi diteteskan secara perlahan pada bidang hitung *haemocytometer* lalu *haemocytometer* ditutup dengan gelas penutup. Penghitungan jumlah spora dilakukan dengan bantuan mikroskop binokuler perbesaran 400x. Jumlah spora dihitung dengan memilih 5 bidang atau kotak sedang *haemocytometer*, lalu tiap bidang tersebut dihitung jumlah spora pada tiap kotak kecil dan dirata-rata nilainya. Setelah diketahui rata-rata spora pada 5 bidang pandang *haemocytometer*, sporulasi jamur dihitung menggunakan rumus (Syahnen *et al.*, 2014):

$$S = R \times K \times F$$

Keterangan:

S = Jumlah spora (spora/ml)

R = Jumlah rata-rata spora pada 5 bidang pandang *haemocytometer*

K = Konstanta koefisien alat ( $2,5 \times 10^5$ )

F = Faktor Pengenceran yang dilakukan

### 3.5.3 Viabilitas spora jamur entomopatogen

Sebanyak 25  $\mu$ l suspensi spora jamur entomopatogen diteteskan di atas media PDA lalu diratakan dan diinkubasi selama 12 jam (Syahnen *et al.*, 2014). Setelah itu, spora jamur entomopatogen diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400 x. Lalu dihitung banyaknya spora yang berkecambah dan yang

tidak berkecambah. Spora dihitung berkecambah apabila telah terbentuk tabung kecambah yang panjangnya setengah diameter spora (Rosanti *et al.*, 2014).

Viabilitas spora dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut (Syahnen *et al.*, 2014):

$$\text{Viabilitas spora (\%)} = \frac{\text{Jumlah spora berkecambah}}{\text{Total spora yang diamati}} \times 100\%$$

#### **3.5.4 Mortalitas wereng coklat setelah aplikasi jamur entomopatogen**

Pengamatan mortalitas wereng dilakukan setiap hari sejak 1-10 hari setelah aplikasi. Nimfa wereng yang diduga terinfeksi jamur entomopatogen dipisahkan dan diletakkan dalam cawan petri yang sudah dilapisi tisu lembab lalu diinkubasi. Pengamatan kematian wereng secara mikroskopis bertujuan untuk memastikan kematian wereng tersebut disebabkan oleh jamur entomopatogen yang telah diaplikasikan. Persentase mortalitas wereng dapat dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Mortalitas (\%)} = \frac{\text{Jumlah serangga uji yang mati}}{\text{Total serangga uji yang diamati}} \times 100\%$$

#### **3.6 Analisis Data**

Homogenitas data diuji menggunakan Uji Barlett dan addivitas data diuji menggunakan uji Tukey. Jika hasil uji tersebut memenuhi asumsi, maka data dianalisis dengan sidik ragam (ANARA). Selanjutnya dilakukan pengujian pemisahan nilai tengah perlakuan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf 5%.

## V. SIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Pertumbuhan dan perkembangan dari masing-masing jamur entomopatogen berbeda. Diameter pertumbuhan jamur selama 14 hsi berada pada kisaran 2,92 – 8,37 cm. Pertumbuhan tertinggi dihasilkan oleh isolat A2 (8,37 cm) dan terendah oleh isolat P (2,57 cm). Sporulasi jamur berada pada kisaran  $1,13 - 23 \times 10^7$  spora/ml. Sporulasi tertinggi dihasilkan oleh isolat A3 ( $23 \times 10^7$  spora/ml) dan terendah oleh isolat B2 ( $1,13 \times 10^7$  spora/ml). Viabilitas jamur berada pada kisaran 26,09 – 98,04%. Viabilitas tertinggi dihasilkan oleh isolat A2 (98,04%) dan terendah oleh isolat B1 (26,09%).
2. Persentase mortalitas nimfa wereng coklat akibat aplikasi jamur entomopatogen berkisar antara 16,67-47,22%. Mortalitas tertinggi disebabkan oleh isolat A2 (47,22%) dan terendah oleh isolat B2 (16,67%).
3. Isolat A2 merupakan isolat terpilih yang berpotensi untuk digunakan sebagai agensia pengendali hayati wereng coklat (47,22%). Hal ini didukung dengan hasil pertumbuhan (8,37 cm), sporulasi ( $16,67 \times 10^7$  spora/ml), dan viabilitas (98,04%) jamur yang tinggi.

4. Identitas dari masing-masing isolat yaitu A1, A2, dan A4 (*Aspergillus oryzae*); B1 dan B2 (*Beauveria bassiana*); M (*Metarhizium flavoviride*); P (*Penicillium oxalicum*); dan A3 (*Talaromyces sayulitensis*).

## 5.2 Saran

Penulis memberikan saran sebagai berikut :

1. Menguji patogenesis jamur entomopatogen terhadap serangga hama lain, baik pada ordo yang sama maupun berbeda.
2. Mengaplikasi jamur entomopatogen dengan tingkat konsentrasi yang berbeda.

## DAFTAR PUSTAKA

- Afzal, H., S. Shazad & S.Q.U. Nisa. 2013. Morphological identification of *Aspergillus* species from the soil of larkana district (Sindh, Pakistan). *Asian Journal Agriculture and Biology*. 1(3): 105-117.
- Agus, N., A. P. Saranga, A. Rosmana & A. Sugiarti. 2015. Viability and conidial production of entomopathogenic fungi *Penicillium* sp. *International Journal of Scientific & Technology Research* 4(1): 193-195.
- Alavo, T.B.C., H. Sermann & H. Bochow. 2001. Biocontrol of aphids using *Verticillium lecanii* in greenhouse: factor reducing the effectiveness of the entomopathogenic fungus. *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 34 (6): 407-424.
- Ardiyati, A.T., G. Mudjiono & T. Himawan. 2015. Uji patogenesis jamur entomopatogen *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin pada jangkrik (*Gryllus* sp.) (Orthoptera: Gryllidae). *Jurnal HPT Universitas Brawijaya* 3(3): 43-51.
- Arsyogi, B. 2014. Mortalitas *Aphis craccivora* Koch. pada beberapa konsentrasi *Beauveria bassiana* Balsamo pada tanaman kacang panjang. *Skripsi*. Universitas Bengkulu. Bengkulu.
- Badan Ketahanan Pangan dan Penyuluh Pertanian Aceh. 2009. Budidaya Tanaman Padi. <http://nad.litbang.pertanian.go.id/ind/images/dokumen/modul/10-Budidaya-padi.pdf>. Diakses pada tanggal 18 November 2017.
- Badan Pusat Statistik. 2015. Luas Panen, Produktivitas dan Produksi Tanaman Pangan Menurut Provinsi (Dinamis). <https://www.bps.go.id/site/resultTab>. Diakses pada 21 Januari 2018.
- Badan Pusat Statistik. 2017. Rata-Rata Konsumsi per Kapita Seminggu Beberapa Macam Bahan Makanan Penting. <https://www.bps.go.id/>. Diakses pada 4 November 2017.
- Baehaki, S.E. & I.N. Widiarta. 2009. Hama Wereng dan Cara Pengendaliannya pada Tanaman Padi.

[http://www.litbang.pertanian.go.id/special/padi/bbpadi\\_2009\\_itp\\_13.pdf](http://www.litbang.pertanian.go.id/special/padi/bbpadi_2009_itp_13.pdf).  
Diakses pada 4 November 2017.

- Baehaki, S.E. 2011. Strategi fundamental pengendalian hama wereng batang coklat dalam pengamanan produksi padi nasional. *Pengembangan Inovasi Pertanian* 4(1): 63-75.
- Baehaki, S.E. 2016. Resistensi wereng coklat terhadap insektisida yang beredar di sentra produksi padi. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan* 35(2):99-108.
- Basri, A.B. 2012. Mengenal wereng coklat. *Seri Inovasi Pembangunan Serambi Pertanian* 6(2): 1-2.
- Deciyanto, S. & I.G.A.A. Indrayani. 2008. Jamur entomopatogen *Beauveria bassiana* : potensi dan prospeknya dalam pengendalian hama tungau. *Perspektif* 8(2): 65-73.
- Guilford, J.P. 1956. *Fundamental Statistic in Psychology and Education 3<sup>rd</sup> Ed.* McGraw-Hill Book Company. New York.
- Gul, H.T., S. Saeed & F.Z.A. Khan. 2014. Entomopathogenic fungi as effective insect pest management tactic: a review. *Applied Sciences and Business Economics* 1(1): 10-18.
- Hasibuan, R. 2015. *Insektisida Organik Sintetik dan Biorasional*. Plantaxia. Yogyakarta.
- Herlinda, S., S.I. Mulyati & Suwadi. 2008. Jamur entomopatogen berformulasi cair sebagai bioinsektisida untuk pengendali wereng coklat. *Agritrop*. 27(3): 119-126.
- Invasive Species Compendium. 2017. *Nilaparvata lugens* (brown planthopper). <https://www.cabi.org/isc/datasheet/36301>. Diakses pada 18 Januari 2018.
- Integrated Taxonomic Information System. 2017<sup>a</sup>. *Oryza sativa* L. [https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_value=41976#null](https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=41976#null). Diakses pada tanggal 18 November 2017.
- Integrated Taxonomic Information System. 2017<sup>b</sup>. *Nilaparvata lugens*. [https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_value=902550#null](https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=902550#null). Diakses pada tanggal 18 November 2017.
- Jenkins, N.E. & M.B. Thomas. 1995. Effect of formulation and application method on the efficacy of aerial and-submerged conidia of *Metarhizium flavoviride* for locust and grasshopper control. *Pesticide Science* 46 (4): 299-306.

- Joshi, M. & J.D. Desphande. 2010. Polymerase chain reaction: methods, principles and application. *International Journal of Biomedical Research* 1(5) : 81-97.
- Khoiroh, F., Isnawati & U. Faizah. 2014. Patogenisitas cendawan entomopatogen (*Lecanicillium lecanii*) sebagai bioinsektisida untuk pengendalian hama wereng coklat secara *in vivo*. *LenteraBio* 3(2): 115-121.
- Makarim, A.K. & E. Suhartatik. 2009. Morfologi dan Fisiologi Tanaman Padi. [http://www.litbang.pertanian.go.id/special/padi/bbpadi\\_2009\\_itkp\\_11.pdf](http://www.litbang.pertanian.go.id/special/padi/bbpadi_2009_itkp_11.pdf). Diakses pada tanggal 18 November 2017.
- Marheni, S. & S. Oemry. 2015. Uji efektifitas jamur entomopatogen *Beauveria bassiana* dan *Metarhizium anisopliae* terhadap kepik hijau (*Nezara viridula* L.) (Hemiptera ; Pentatomidae) pada tanaman kedelai (*Glycine max* L.) di Rumah Kasa. *Jurnal Online Agroekoteknologi* 3(1): 320-327.
- Masyitah, I., S.F. Sitepu & I. Safni. 2017. Potensi jamur entomopatogen untuk mengendalikan ulat grayak *Spodoptera litura* F. pada tanaman tembakau *in vivo*. *Jurnal Agroekoteknologi FP USU* 5(3): 484- 493.
- Mizana, D.K., N. Suharti & A. Amir. 2016. Identifikasi pertumbuhan jamur *Aspergillus* sp. pada roti tawar yang dijual di kota padang berdasarkan suhu dan lama penyimpanan. *Jurnal Kesehatan Andalas* 5(2): 355-360.
- Mutmainnah. 2015. Perbanyak cendawan entomopatogen *Penicillium* sp. isolat Bone pada beberapa media tumbuh organik. *Pertanian Berkelanjutan* 3(3) : 1-11.
- Nurbaeti, B., I.G.P.A. Diratmaja & S. Putra. 2010. *Hama Wereng Coklat (Nilaparvata lugens Stal) dan Pengendaliannya*. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian. Jawa Barat.
- Pacheco, J.C., A.S. Poltronieri, M.V. Porsani, M.A.C. Zawadneak & I. C. Pimentel. 2017. Entomopathogenic potential of fungi isolated from intertidal environments against the cabbage aphid *Brevicoryne brassicae* (Hemiptera: Aphididae). *Biocontrol Science and Technology* 27 (4): 1-14.
- Perwira, P. 2015. Virulensi beberapa isolat *Metarhizium anisopliae* terhadap walang sangit (*Leptocorisa oratorius* F.) di laboratorium. *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Pinem, M.I., R. Widariyanto & F. Zahara. 2017. Patogenitas beberapa cendawan entomopatogen (*Lecanicillium lecanii*, *Metarhizium anisopliae*, dan *Beauveria bassiana*) terhadap *Aphis glycines* pada tanaman kedelai. *Jurnal Agroekoteknologi FP USU* 5(1): 8-16.

- Priyatno, T.P., I. M. Samudra, I. Manzila, D. N. Susilowati & Y. Suryadi. 2016. Eksplorasi dan karakterisasi entomopatogen asal berbagai inang dan lokasi. *Berita Biologi* 15(1) : 69-79.
- Purkan, P., A. Baktir & A. R. Sayyidah. 2016. Produksi enzim kitinase dari *Aspergillus niger* menggunakan limbah cangkang rajungan sebagai inducer. *Journal Kimia Riset* 1(1) : 34-41.
- Purnomo, H. 2010. *Pengantar Pengendalian Hayati*. C.V. Andi Offset. Yogyakarta.
- Purwantisari, S. & R.B. Hastuti. 2009. Isolasi dan identifikasi jamur indigenous rhizosfer tanaman kentang dari lahan pertanian kentang organik di Desa Pakis, Magelang. *Bioma* 11(2): 45-53.
- Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian. 2014. Beras. *Buletin Konsumsi Pangan* 5(1): 9-20.
- Putri, M.H.O, H. Kasmara & Melanie. 2015. Jamur entomopatogen *Beauveria bassiana* (Balsamo, 1912) sebagai agen pengendali hayati nyamuk *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762). *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia*. Universitas Padjajaran Sumedang. September 2015.
- Rosanti, K.T., I.R. Sastrahidayat & A.L. Abadi. 2014. Pengaruh jenis air terhadap perkecambah spora jamur *Colletotrichum capsici* pada cabai dan *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersicii* pada tomat. *Jurnal HPT* 2(3): 109-120.
- Samuels, R. I. 1998. A sensitive bioassay for destruxins, cyclodepsipeptides from the culture filtrates of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. *An. Soc. Entomol Brasil* 27(2) : 229-235.
- Satpathi, C.R., P. Acharjee & J. Saha. 2016. Natural mycosis of rice brown plant hopper (*Nilaparvata lugens* Stal) in Eastern India. *American Scientific Research Journal for Engineering, Technology, and Sciences* 26(4):195-204.
- Semenguk, B. 2016. Eksplorasi dan inventarisasi cendawan entomopatogen yang diisolasi dari pertanaman jagung di beberapa kabupaten/kota provinsi Lampung. *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Septiana, E. 2015. Jamur entomopatogen : potensi dan tantangan sebagai insektisida alami terhadap serangga perusak tanaman dan vektor penyakit manusia. *BioTrends* 1(1): 28-32.
- Setiawan, A. 2012. Selektivitas infeksi cendawan *Metarhizium* sp. terhadap hama wereng batang cokelat *Nilaparvata lugens* Stal (Hemiptera: Delphacidae) dan predator *Paederus fuscipes* Curtis (Coleoptera: Staphylinidae). *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

- Shahid, A.A., A.Q. Rao, A. Bakhsh & T. Husnain. 2012. Entomopathogenic fungi as biological controllers: new insights into their virulence and pathogenicity. *Archives of Biological Science Belgrade* 64(1): 21-42.
- Syahnen, D.D.N. Sirait, & S.E. Br. Pinem. 2014. *Teknik Uji Mutu Agens Pengendali Hayati (APH) di Laboratorium*. Laboratorium Lapangan Balai Besar Perbenihan dan Proteksi Tanaman Perkebunan (BBPPTP). Medan.
- Tamura, K., G. Stecher, D. Peterson, A. Filipski, & S. Kumar. 2013. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* 30(12): 2725–2729.
- Thalib, R., R. Fernando, Khodijah, D. Meidalima, & S. Herlinda. 2013. Patogenisitas isolat *Beauveria bassiana* dan *Metarhizium anisopliae* asal tanah lebak dan pasang surut Sumatera Selatan untuk agens hayati *Scirpophaga incertulas*. *J. HPT Tropika* 13(1): 10-18.
- Yilmaz, N., C.M. Visagie, J. Houbraeken, J.C. Frisvad & R.A. Samson. 2014. Polyphasic taxonomy of the genus *Talaromyces*. *Studies in Mycology* 78: 175–341.
- Yusuf, Z.K. 2010. Polymerase chain reaction. *Saintek Universitas Gorontalo* 5(6): 1-6.
- Yuwono, T. 2010. *Biologi Molekular*. Erlangga. Jakarta.
- White, T. J., T. D. Bruns, S. B. Lee, & J. W. Taylor. 1990. *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. Academic Press. United States.
- Zhang, P., Y. You, Y. Song, Y. Wang & L. Zhang. 2015. First record of *Aspergillus oryzae* (Eurotiales: Trichocomaceae) as an entomopathogenic fungus of the locust, *Locusta migratoria* (Orthoptera: Acrididae). *Biocontrol Science and Technology* 25(11): 1-20.